



TITLE:

計画12-2 霊長類におけるスギ花粉症の比較研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

山崎, 貢

CITATION:

山崎, 貢. 計画12-2 霊長類におけるスギ花粉症の比較研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1995, 25: 86-87

ISSUE DATE:

1995-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164687>

RIGHT:

II β 保存性が利用できる。各生物種からクローニングされた rDNA 遺伝子の塩基配列の違いを分子レベルで解析・比較する方法に加えて、ゲノム全体を対象に染色体レベルで比較・検討を行うことにより、種の類縁関係を明らかにしようとする試みが多くの種で行われてきた。rRNA 遺伝子のなかでこのような目的に最もよく用いられる遺伝子は 18S あるいは 28S である。しかしながら 5SrRNA 遺伝子は 18S あるいは 28S と同様反復配列を持つ遺伝子であるが、18S や 28S とは異なった染色体位置に存在し独立している。同じ rRNA 遺伝子でありながら 5SrDNA の染色体地図はヒト、ラット、マウスで決定されているにすぎない。さらに、18S および 28S は物理的位置の変異性が高いことに比較して、5S は保存性が高い事が示唆されている。そこで、各種霊長類の 5S の物理的位置を FISH 法を用いて比較し、その分化の法則性を解析する事を計画した。まず、マウス 5S クローンをプローブとして、染色体数の異なるヒトとチンパンジーの染色体マッピングを試みた。その結果、チンパンジーでは第 1 染色体の短腕の末端近位にシグナルが観察された。この部位はヒトの 1q42.11-q42.13 と相同である。しかし、ヒトの染色体では、ハイブリダイゼーションが観察されなかった。今後、より多くの霊長類で解析を行い、5SrDNA の染色体上の分化を明らかにしていく予定である。

計画 12-1

霊長類特に新世界ザルの MHC クラス II 遺伝子の多様性の解析及びタイピング法の確立

松本芳嗣・細川明子（東京大学農学部応用免疫学教室）

主要組織適合型複合体 (MHC) は自己、非自己の識別に関わる分子であり、そのうち MHC クラス II 分子は感染症に対する感受性や自己免疫疾患の発症に関与すると考えられ、重要視されている。霊長類の MHC 遺伝子はヒトのそれと非常に高い相同性を示し、また感染症を含めた霊長類の疾患はヒトと共通のものも多いことから、霊長類はマウスやラットにはかからないヒトの疾患のモデル動物となり得る。このため、霊長類 MHC クラス II 遺伝子の情報及び簡便なタイピング法の確

立が望まれる。一方、新世界ザルにおいてはヒトや旧世界ザルと比較してこの遺伝子に関する知見が少ないため、本研究では特に新世界ザルの MHC クラス II 遺伝子に関する研究を行っている。その一環として、リスザル MHC クラス II β 鎖 cDNA の一部の特異的な増幅を行い、増幅産物の塩基配列を決定した。また、ファージベクターとして λ -ZAP を用い定法に従ってリスザルの脾臓 cDNA ライブラリーを作製した。

リスザルの脾臓より抽出した mRNA を鋳型として、哺乳動物の MHC クラス II β 鎖 cDNA プライマーを用いて RT-PCR を行った。その結果、予想される塩基長 191bp の増幅産物が得られたため、それをクローニングし、塩基配列を決定したところ、3 種類のクローン (CL1, CL2, CL3) が得られた。これらの塩基配列を HLA クラス II 遺伝子各亜領域とそれらと比較した結果、CL1 は DQB 遺伝子と (DQB1*0302 と 94.5%), CL2 及び CL3 は DPB 遺伝子と (DPB1*0101 とそれぞれ 94.5%, 96.6%), それぞれ非常に高い相同性を示した。なお、CL2 と CL3 は塩基配列で 97.9% の相同性を有するものであった。これらの結果により、リスザルにおいて DP β 鎖 cDNA 及び DQ β 鎖 cDNA の一部が増幅し得たと考えられた。このことは、リスザル MHC クラス II β 領域には、ヒト DQ あるいは DP 相当亜領域があることを示唆した。

現在、リスザル脾臓 cDNA ライブラリーから、これらのクローンをプローブとしてリスザル MHC クラス II β 鎖 cDNA のクローニングを試みており、さらに詳細な構造解析を行い、遺伝子タイピング法について検討を加える予定である。

計画 12-2

霊長類におけるスギ花粉症の比較研究

山崎 貢（藤田保健衛生大・医・公衆衛生）

最近、ニホンザルにおけるスギ花粉症が見いだされたが、その自然発症率はヒトに比べて少ない。その理由としてサルとヒトにおける衛生環境要因の違い、特に寄生虫感染率の違いが指摘されている。そこで、ニホンザルにおけるスギ花粉 I g E 抗体、総 I g E 抗体量および寄生虫（鞭虫、糞線虫等）I g E 抗体の各陽性率を調べ、ヒトにおけるそれら知見と比較し、霊長類におけるスギ花粉症の発症と寄生虫感染との関わりについて検証す

る。

今回は、ニホンザルにおけるスギ花粉による自然感作状況をヒトと比較する目的で、ヒト試料についてスギ花粉 I g E 抗体、総 I g E 抗体量および蛔虫 I g E 抗体を調べた。対象者は、18歳から70歳の511人（男209名、女207名、平均年齢40歳）である。蛔虫抗体は、511名から性別および年齢を考慮して選んだ186名について調べた。その結果、

1. スギ花粉 I g E 抗体：抗体陽性者は108名あり、抗体陽性率は21.1%であった。
2. 総 I g E 抗体量：平均値（幾何平均）は、202ng/ml（ ± 1 s.d.：48~871ng/ml）であった。
3. 蛔虫 I g E 抗体：蛔虫抗体陽性者は26名あり、抗体陽性率は14.0%であった。

本結果とニホンザル試料に関する1993年、中村（京大豊長研）らの調査結果と比較すると、スギ花粉 I g E 抗体陽性率はサル（約10%）がヒトよりも低く、反対に平均総 I g E 抗体量はサル（2,434ng/ml）がヒトよりも多い結果であった。また、寄生虫感染率は、サルが80%から90%、ヒトが5%以下であることが知られており、今回ヒトでの蛔虫 I g E 抗体陽性率の低値は寄生虫感染率の低値を反映しているものと思われた。

計画12-3

霊長類における寄生虫感染と I g E 抗体産生応答：ブタ回虫体腔液抗原成分の解析と分画

高宮信三郎（順天堂大・医・寄生虫学）

本年度は寄生虫抗原の分画と寄生虫抗原特異的 I g E 測定法を検討した。

屠場より入手直後のブタ回虫（メス）から体腔液を採取し10万g遠心後の上清分画を抗原精製の出発材料（粗抗原）とした。まず、サルおよびヒトの寄生虫抗原特異的 I g E 測定を目的として、本粗抗原を用いる高感度サンドイッチ ELISA 法を確立した。次に、粗抗原を還元剤および尿素存在下の SDS-PAGE で解析した結果、分子量約82、75、66、39、15、13、10Kの7つの主要成分からなることが明らかになった。精製の第一ステップとして比較的多量の分画に適しているセファデックス G-75 カラム（1.5×105cm）により本粗抗原を分画したところ、分子量の大きい順に4つの主要ピーク（それぞれピーク I、II、III、IV）として分離

溶出された。そのうちピーク I はヘム由来の可視部の吸収を示すことから体腔液中に含まれるヘモグロビンであり、SDS-PAGE 上39Kの成分であることが明らかになった。

また、ピーク IV には15、13、10Kの成分が溶出されたが、その大部分は10K成分であることが確認された。

今回得られたセファデックス G-75 の溶出パターンは、マックギボンらが回虫体腔液アレルゲン ABA-1（SDS-PAGE 上10Kの成分）を精製する際に用いた HPLC カラム TSK 3000SW による溶出パターンと基本的に一致していた。現在、ピーク IV 中の10K成分の N 末端アミノ酸配列による同定と、さらなる精製を進めている。

計画12-4

コモンツパイにおける腫瘍性病変：外表系組織に発生した腫瘍

柳井徳磨（岐阜大学・獣医病理）

コモンツパイ（Tupaia glis）は霊長目と食虫目の特徴を示す小型哺乳動物である。腫瘍を含めたその病理学的特徴はほとんど明らかにされていない。霊長類研究所で繁殖・育成された95例のコモンツパイについて外表系腫瘍を肉眼的に検索し、腫瘍の認められた7例につき病理組織学的に調べた。

肉眼的には、いずれも頸部、胸部および腹部に認められた充実性の皮膚および皮下腫瘍であった。

組織学的には、7例のうちわけは皮脂腺癌1例、脂肪肉腫1例、汗腺腫2例、汗腺癌2例、乳癌1例であった。皮脂腺癌（No.1）では、皮脂腺への分化を示し高異形性の腫瘍細胞からなる癌胞果を形成し、細胞分裂像も豊富であった。脂肪肉腫（No.2）では、細胞質内に大小の脂肪滴を含み異形性を示す腫瘍細胞が皮下に彌漫性に浸潤していた。汗腺腫（No.3,4）では、いずれも真皮から皮下にかけて汗腺によく似た腫瘍細胞が管状あるいは充実性に増殖するが、細胞異形や分裂像は乏しかった。汗腺癌（No.5,6）では、異形性を示す汗腺由来の腫瘍細胞が大小の腺管構造を形成しつつ浸潤増殖、リンパ管への浸潤も認められた。乳癌（No.7）では、乳頭部の乳管に発生した癌が管状